

30 MAR 2005

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2004年4月29日 (29.04.2004)

PCT

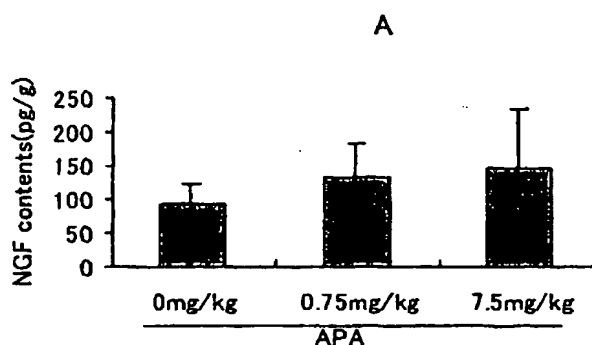
(10) 国際公開番号
WO 2004/035053 A1

- (51) 国際特許分類: A61K 31/445, A61P 9/00, 9/10, 21/04, 25/00, 25/14, 25/16, 25/28, 25/02, 43/00 // C07D 211/60
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2003/013099
- (22) 国際出願日: 2003年10月10日 (10.10.2003)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2002-300247
2002年10月15日 (15.10.2002) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 藤沢薬品工業株式会社 (FUJISAWA PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒541-8514 大阪府 大阪市 中央区 道修町3丁目4番7号 Osaka (JP).
- (72) 発明者; および
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 古川 昭栄 (FURUKAWA, Shoel) [JP/JP]; 〒502-0003 岐阜県 岐阜市 三田洞東4丁目4番7号 Gifu (JP). 新田 淳美 (NITTA, Atsumi) [JP/JP]; 〒502-0835 岐阜県 岐阜市 織田町1丁目15番地 織田町営番館301 Gifu (JP).
- (74) 代理人: 田伏 英治 (TABUSHI, Eiji); 〒532-8514 大阪府 大阪市 淀川区 加島2丁目1番6号 藤沢薬品工業株式会社 大阪工場内 Osaka (JP).
- (81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK,

/ 続葉有 /

(54) Title: NEUROTROPHIC FACTOR PRODUCTION PROMOTER

(54) 発明の名称: 神経栄養因子産生促進剤



(57) Abstract: It is intended to provide a neurotrophic factor production promoter which contains, as the active ingredient, N-acetyl-L-pipecolinic acid or its pharmaceutically acceptable salt and is usable in preventing or treating neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease, Parkinson's disease, spinal injury, Huntington's disease, brain infarction, cranial trauma, multiple sclerosis, amyotrophic lateral sclerosis, diabetic or drug-induced peripheral neuropathy and retinal neuropathy.

(57) 要約: N-アセチル-L-ピペコリン酸またはその医薬として許容される塩を有効成分として含有する、アルツハイマー病、パーキンソン病、脊髄損傷、ハンチントン病、脳梗塞、頭部外傷、多発性硬化症、筋萎縮性側索硬化症、糖尿病性あるいは薬物誘発性の末梢神経障害、網膜神経障害等の神経変性疾患の予防または治療に用いる新規な神経栄養因子産生促進剤を提供する。

BEST AVAILABLE COPY

WO/2004/035053 A1



SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC,
VN, YU, ZA, ZM, ZW.

OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ,
SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM,
AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許
(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB,
GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR),

添付公開書類:

— 国際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される
各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語
のガイダンスノート」を参照。

明 細 書

神経栄養因子産生促進剤

技術分野

本発明は、神経変性疾患等の予防または治療に有用である新規な神経栄養因子産生促進剤に関する。

背景技術

中枢および末梢神経系には、無数の神経細胞が存在し神経情報を伝達している。しかし、神経細胞は、出生の前後で分裂を停止するため、一度損傷を受けると再生されることは困難である。このように神経細胞は同じ細胞が一生機能を担うため、その分化、軸索の伸長、シナプスの形成、生存・機能維持に様々な栄養因子が大きな役割を果たしていると考えられている。これらの神経栄養因子の中で比較的研究がよく進み、代表的なものとしてニューロトロフィンファミリーがあり、それらには神経成長因子（以下、「NGF」という）、脳由来神経栄養因子（以下、「BDNF」という）、ニューロトロフィン-3（以下、「NT-3」という）、NT-4/5、NT-6などが報告されている。ニューロトロフィン以外には最近、グリア細胞由来神経栄養因子（以下、「GDNF」という）が同定され、神経栄養因子として重要な役割を果たしていると考えられているが、その詳細は解っていない。

一方、社会の高齢化が進むにつれてアルツハイマー病やパーキンソン病のような神経変性疾患の患者が増加している。これらの疾患は難治性かつ進行性であり、根本的な治療法は確立されていない。そこで、神経栄養因子を神経変性疾患の治療に応用することが考えられている。しかし、神経栄養因子はタンパク質であるため血中で分解されやすいうえに、脳・血液関門を通過できず、末梢投与による脳での効果は期待できない。さらに、脳に直接注入することは倫理的、技術的に限界がある。そこで、末梢から投与して、脳においてこれらの因子の発現を

増加させるような化合物が見つければ、治療薬として活用できる可能性が考えられる（例えば、特許文献 1 または 2 を参照）。

特許文献 1： WO 99/62879（特表 2002-516903）

特許文献 2： WO 99/62881（特表 2002-516905）

最近、免疫抑制剤が脳虚血や外傷による脳障害を抑制することが報告されている。免疫抑制剤の細胞内結合タンパクであるイムノフィリンは免疫組織ばかりでなく中枢神経系にも豊富に存在し、神経細胞において中枢神経保護効果を媒介することが報告されている。しかし、免疫抑制作用は、神経保護を目的とするイムノフィリンリガンドの応用にはむしろ不利益をもたらす。そこで、免疫抑制作用を有さない神経保護物質の創製が望まれる。

発明の開示

本発明者らは、免疫抑制剤であるタクロリムス（図 1-A）がその結合タンパクと相互作用する構造に着目し、その部分構造を化学構造的に安定化させた N-アセチル-L-ピペコリン酸（図 1-B）（以下、「APA」という）について神経保護作用を検討し、APA が優れた神経栄養因子産生促進効果を有することを見出し、本発明を完成するに至った。

すなわち、本発明は、以下の特徴を有するものである。

- (1) N-アセチル-L-ピペコリン酸またはその薬理学的に許容される塩を有効成分として含有する神経栄養因子産生促進剤。
- (2) 神経変性疾患の予防または治療のためにヒトまたは動物に投与される (1) 記載の神経栄養因子産生促進剤。
- (3) 神経変性疾患が、アルツハイマー病、パーキンソン病、脊髄損傷、ハンチントン病、脳梗塞、頭部外傷、多発性硬化症、筋萎縮性側索硬化症、糖尿病性あるいは薬物誘発性の末梢神経障害または網膜神経障害である、(2) 記載の神経栄養因子産生促進剤。
- (4) 神経栄養因子がニューロトロフィンである、(1) ~ (3) のいずれかに

記載の神経栄養因子産生促進剤。

(5) 神経変性疾患の予防剤または治療剤の製造のための、N-アセチル-L-ピペコリン酸またはその医薬として許容される塩の使用。

(6) 神経栄養因子産生促進剤の製造のための、N-アセチル-L-ピペコリン酸またはその医薬として許容される塩の使用。

(7) N-アセチル-L-ピペコリン酸またはその医薬として許容される塩の有効量を投与し、神経変性疾患を予防または治療する方法。

(8) N-アセチル-L-ピペコリン酸またはその医薬として許容される塩の有効量を投与し、神経栄養因子産生を促進する方法。

ここで、「神経栄養因子」とは、前記した通り、NGFのように、神経細胞の生存維持、神経分化促進などの生理作用を有するタンパク質の総称であり、具体的には、NGF、BDNF、NT-3、NT-4/5、NT-6を含むニューロトロフィンファミリー、更に、GDNF、グリア成長因子（GGF2）、中枢神経系成長因子（AF-1）等を意味する。

「神経栄養因子産生促進剤」とは、インビボあるいはインビトロで神経細胞に接触させた場合、その細胞からの神経栄養因子の産生（合成）を誘導または促進する作用を示す薬剤を意味する。

「ニューロトロフィン」とは、生体では、神経成長の標的となる細胞、あるいは標的に向かって伸長している細胞から分泌される神経栄養因子、または自己分泌や傍分泌により神経（ニューロン）の成長、分化、生存を助けて、神経回路（シナプス）を形成させる神経栄養因子を意味し、具体的には、前記した通り、NGF、BDNF、NT-3、NT-4/5、NT-6が現在知られており、アミノ酸配列の相同性も高い類似構造のタンパク質群である。

「神経変性疾患」とは、中枢あるいは末梢神経系の神経細胞の脱落、壊死を伴

う疾患の総称であり、アルツハイマー病、パーキンソン病、脊髄損傷、ハンチントン病、脳梗塞、頭部外傷、多発性硬化症、筋萎縮性側索硬化症がその代表例である。また、糖尿病性あるいは薬物誘発性の末梢神経障害または網膜神経障害も、本発明に於ける神経変性疾患の概念に含まれる。

「医薬として許容される塩」とは、慣用の無毒性の塩であって、具体的には、アルカリ金属塩（例えば、ナトリウム塩またはカリウム塩）およびアルカリ土類金属塩（例えば、カルシウム塩またはマグネシウム塩）のような金属塩、無機酸付加塩（例えば、塩酸塩、臭化水素酸塩、硫酸塩、リン酸塩等）、有機カルボン酸またはスルホン酸付加塩（例えば、蟻酸塩、酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩、マレイン酸塩、酒石酸塩、フマル酸塩、メタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、トルエンスルホン酸塩等）、塩基性または酸性アミノ酸（例えば、アルギニン、アスパラギン酸、グルタミン酸等）との塩を挙げることができる。

次に、本発明の神経栄養因子産生促進剤の製剤化および投与量について説明する。本発明の神経栄養因子産生促進剤は、カプセル剤、マイクロカプセル剤、錠剤、顆粒剤、粉末、トローチ剤、丸剤、軟膏、坐剤、注射剤、懸濁剤、シロップ剤、乳剤、液剤、腸溶コーティング剤、噴霧剤、吸入剤、点眼剤、点鼻剤等の慣用の医薬製剤の形で、経口、非経口（静脈内、腹腔内、皮下および筋肉内注射を含む）または外用（局所）投与（直腸、経皮、点眼および経鼻投与を含む）することができる。

上記の医薬製剤は、賦形剤（例えば、スクロース、デンプン、マンニット、ソルビット、ラクトース、グルコース、セルロース、タルク、リン酸カルシウム、炭酸カルシウム等）、結合剤（例えば、セルロース、メチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ポリプロピルピロリドン、ゼラチン、アラビアゴム、ポリエチレングリコール、スクロース、デンプン等）、崩壊剤（例えば、デンプン、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルデンプン、炭酸水素ナトリ

ウム、リン酸カルシウム、クエン酸カルシウム等)、滑沢剤(例えば、ステアリン酸マグネシウム、エアロシル、タルク、ラウリル硫酸ナトリウム等)、矯味剤(例えば、クエン酸、メントール、グリシン、オレンジ末等)、保存剤(例えば、安息香酸ナトリウム、重亜硫酸ナトリウム、メチルパラベン、プロピルパラベン等)、安定化剤(例えば、クエン酸、クエン酸ナトリウム、酢酸等)、懸濁化剤(例えば、メチルセルロース、ポリビニルピロリドン、ステアリン酸アルミニウム等)、分散剤(例えば、ヒドロキシプロピルメチルセルロース等)、希釈剤(例えば水等)、基材ワックス(例えば、カカオバター、白色ワセリン、ポリエチレングリコール等)のような製剤化に慣用の有機または無機の各種担体を用いる常法によって製造することができる。

本発明の神経栄養因子産生促進剤の投与量は、所望の治療(または予防)効果を生じるに足りる量であればよく、例えば経口または非経口投与で0.01mg/kg~100mg/kg、好ましくは0.1mg/kg~10mg/kgである。本発明の神経栄養因子産生促進剤は通常、単位投与量0.1mg/個体~1000mg/個体、好ましくは5mg/個体~500mg/個体を1日当たり1~4回投与することができる。しかしながら、上記の投与量は患者の年齢、体重、症状または投与法によって適宜増減してもよい。

実施例

以下、試験例および実施例を挙げて本発明をさらに詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

試験例1(正常マウス脳における神経栄養因子の発現に及ぼすAPPAの効果)

試験方法: 5週齢のddy系雄性マウス(日本エルエルシー)を次の3群(各群9匹)に分け試験を行った。

1群(コントロール) リン酸緩衝生理食塩水(PBS)をマウス腹腔内に1日1回7日間投与した。

2群 PBSに溶解したAPA (0.75mg/kg) をマウス腹腔内に1日1回7日間投与した。

3群 PBSに溶解したAPA (7.5mg/kg) をマウス腹腔内に1日1回7日間投与した。

いずれの群も、最終投与24時間後に断頭し大脳皮質と線条体を取り出した。

エンザイムアッセイ (EIA) 法用サンプルの調製： 摘出した大脳皮質と線条体の重量を測定し、アポロチニン (80 TIU/L) を加えたホモゲナイジングバッファー (1M塩酸ナトリウム、2% BSA、2mM EDTA、0.2% アジ化ナトリウムを含む0.1Mトリスーリン酸緩衝液 (pH 7.4)) を重量の19倍容量加え、ソニケーションを30回行った。4℃で遠心分離 (100,000g × 30分) し、上清を分取し、同量のクロロホルムを加え、よく攪拌して遠心分離 (20,000g × 10分) した。上清を分取し、EIA法用のサンプルとした (使用時まで-20℃で冷凍保存した。)。

EIA法による神経栄養因子の測定： NGFの場合は、古川らの方法 {ジャーナル オブ ニューロケミストリー (Journal of Neurochemistry), 40, 734-744 (1983)} によるEIA法を、GDNFの場合は、新田らの方法 {Mizunoら編集による「Mapping the progress of Alzheimer's and Parkinson's Disease」 (2002) の第463から467頁} によるEIA法を、それぞれ用いて、各サンプル中の神経栄養因子濃度を測定した。得られた値を20倍することによって、各脳部位での神経栄養因子含量とした。

試験結果： APAを7日間連続腹腔投与したマウスは、コントロールのマウスに比べて行動異常、脱毛あるいは体重減少は観察されなかった。線条体におけるNGF発現量は、APA投与により、コントロールに比べ顕著な差はなかったが (図2-B)、大脳皮質におけるそれは、APA投与により用量依存的に増加す

る傾向が観察された(図2-A)。一方、GDNF発現量は、大脳皮質においては、APA投与により、コントロールに比べ顕著な差はなかったが(図3-A)、線条体においては、コントロールに比べAPA 0.75mg/kg投与により66.0%の増加が観察された(図3-B)。

試験例2 (パーキンソン病モデルマウスにおける神経栄養因子産生促進を介したAPAの神経保護効果)

試験方法: 5週齢のddy系雄性マウス(日本エルエルシー)を次の4群(各群9匹)に分け試験を行った。マウスにペントバルビタール麻酔下で開頭せずに頭皮膚を介してマイクロシリンジの針先を右脳の線条体に挿入し、0.05%アスコルビン酸を含む生理食塩水に溶解した6-ハイドロキシドーパミン(6-OHDA、シグマ社) 11.5 μ g/ μ Lを1 μ L注入した。

1群 (コントロール) アスコルビン酸のみを含む生理食塩水を注入して線条体に破壊を行わなかった。その後、PBSのみをマウス腹腔内に1日1回7日間投与した。

2群 6-OHDAによって線条体を破壊した日からマウス腹腔内に1日1回7日間PBSを投与した。

3群 6-OHDAによって線条体を破壊した日からマウス腹腔内に1日1回7日間PBSに溶解したAPA (0.75mg/kg)を投与した。

4群 6-OHDAによって線条体を破壊した日からマウス腹腔内に1日1回7日間PBSに溶解したAPA (7.5mg/kg)を投与した。

いずれの群も、最終投与24時間後に断頭し大脳皮質を取り出した。

ドーパミン作動性神経の機能評価: 上記各群のパーキンソン病モデルマウスを透明の円柱型容器(ガラス製、直径9cm-高さ12cm)内で10分間自由に探索させた後、メタンフェタミン(大日本製薬、10mg/kg)を腹腔内投与し、投与後10~20分までの回転数を計数した。この試験では右側線条体を破壊しているため右方向の回転運動(片側回転運動)が観察された。

E I A法用サンプルの調製とE I A法による神経栄養因子の測定： それぞれ、試験例1と同様に行った。

試験結果： ドーパミン作動性神経の機能評価においては、線条体を破壊しAPAを投与しない群では 86.0 ± 14.1 回の片側回転運動を示したのに対し、線条体破壊後7日間APAを 0.75 または 7.5 mg/kg 投与すると、それぞれ 40.9 ± 17.3 回、 47.1 ± 13.1 回と、片側回転運動が抑制された(図4)。一方、大脳皮質におけるNGF発現量は、6-OHDAを注入すると 50.0% に減少したが、APA 0.75 および 7.5 mg/kg を投与すると、それぞれ 11.2% および 30.7% の増加が観察された(図5)。また、大脳皮質におけるGDNF発現量は、APA 0.75 および 7.5 mg/kg 投与により、それぞれ 74.9% および 232.4% の増加が観察された(図6)。

試験例3 (脊髄損傷ラットにおける歩行能力向上に及ぼすAPAの効果)

試験方法： 7週齢の雄性Wistar系ラット(日本エスエムシー)を次の3群(各群12~17匹)に分けて試験を行った。ラットにペントバルビタールナトリウム(大日本製薬、 35 mg/kg)を腹腔内注射し、背部に正中切開を加え、傍脊柱筋を鈍的に剥離した。第12胸椎の椎弓を切除後、同部位において鋭利な刃物で左脊髄を切断した。切断5時間後、左後足麻酔の障害が確認できるものについて以下の試験を行った。

1群 脊髄を損傷させていない(第12胸椎の椎弓切除後、脊髄を切断せずに縫合した)ラットに対して、PBSを腹腔内に投与した。

2群 脊髄を損傷させたラットに対して、PBSを腹腔内に投与した。

3群 脊髄を損傷させたラットに対して、PBSに溶解したAPA(0.75 mg/kg)を腹腔内に投与した。

いずれの群も、脊椎損傷日から1日1回20日間投与を行った。

脊髄損傷ラットの歩行能力の評価方法： 灰色に塗装した箱（縦1m×横1m×高さ30cm）にラットを入れ、自由に探索させ、21-Point Basso-Besttie-Bresnahan Locomotor Rating Scale（BBBスケール）に従って21段階で評価した。

試験結果： BBBスケールは、脊髄損傷直後には0まで低下した。2日目まではAPA投与の効果は観察されなかったが、3日目からはAPA投与によって歩行能力の程度が増加した。APA投与群では23日目には、ほぼ損傷前のレベルまで回復した。脊髄損傷群のラットも時間の経過に伴い緩やかに上昇し、16日目にはスコア15まで上昇したが、その後、それ以上の回復はなかった（図7）。

本発明の製剤例を以下に示す。

実施例1（カプセル剤）

APA 5mg、乳糖 80mg

上記成分を混合し、これを通常の硬ゼラチンカプセルに充填してカプセル剤とする。

図面の簡単な説明

第1図： （A）タクロリムスの構造式である。（B）N-アセチル-L-ピペコリン酸の構造式である。

第2図： （A）マウス大脳皮質におけるNGF発現に及ぼすAPAの効果を示す。（B）マウス線条体におけるNGF発現に及ぼすAPAの効果を示す。

第3図： （A）マウス大脳皮質におけるGDNF発現に及ぼすAPAの効果を示す。（B）マウス線条体におけるGDNF発現に及ぼすAPAの効果を示す。

第4図： パーキンソン病モデルマウスにおけるドーパミン作動性神経の機能に対するAPAの片側回転運動抑制効果を示す。

第5図： パーキンソン病モデルマウス大脳皮質におけるNGF発現に及ぼすA

PAの効果を示す。

第6図： パーキンソン病モデルマウス大脳皮質におけるGDNF発現に及ぼす

APAの効果を示す。

第7図： 脊髄損傷ラットにおける歩行能力向上に及ぼすAPAの効果を示す。

産業上の利用の可能性

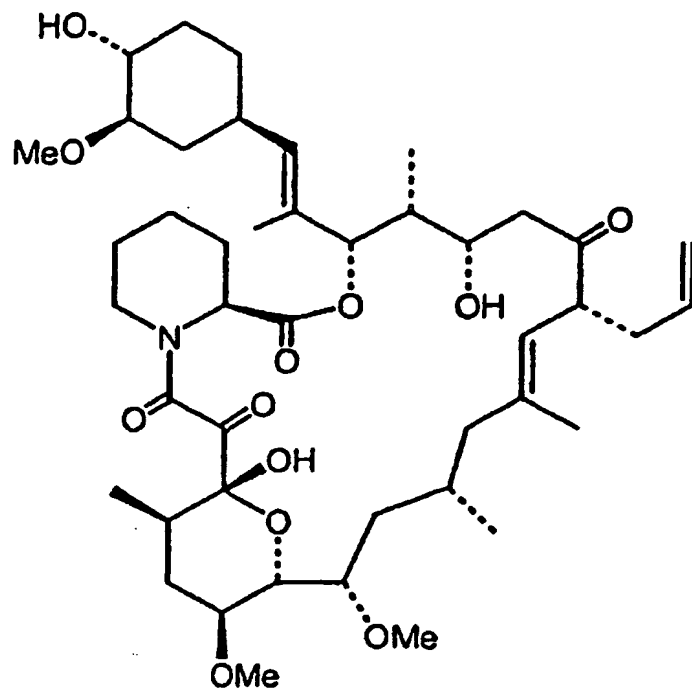
本発明によれば、NGF、GDNF等の神経栄養因子の生合成を誘導、促進させ、アルツハイマー病、パーキンソン病、脊髄損傷等の神経変性疾患に有効でありかつ安全な薬剤を提供することができる。

請求の範囲

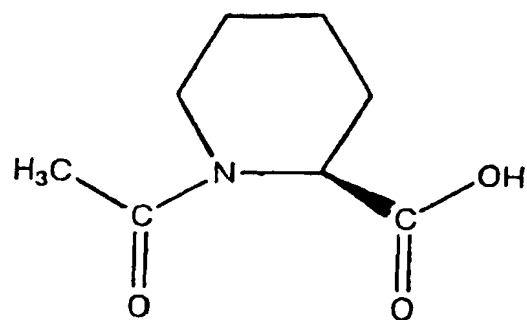
1. N-アセチル-L-ピペコリン酸またはその医薬として許容される塩を有効成分として含有する神経栄養因子産生促進剤。
2. 神経変性疾患の予防または治療のためにヒトまたは動物に投与される請求の範囲第1項記載の神経栄養因子産生促進剤。
3. 神経変性疾患が、アルツハイマー病、パーキンソン病、脊髄損傷、ハンチントン病、脳梗塞、頭部外傷、多発性硬化症、筋萎縮性側索硬化症、糖尿病性あるいは薬物誘発性の末梢神経障害または網膜神経障害である、請求の範囲第2項記載の神経栄養因子産生促進剤。
4. 神経栄養因子がニューロトロフィンである、請求の範囲第1～3項のいずれかに記載の神経栄養因子産生促進剤。
5. 神経変性疾患の予防剤または治療剤の製造のための、N-アセチル-L-ピペコリン酸またはその医薬として許容される塩の使用。
6. 神経栄養因子産生促進剤の製造のための、N-アセチル-L-ピペコリン酸またはその医薬として許容される塩の使用。
7. N-アセチル-L-ピペコリン酸またはその医薬として許容される塩の有効量を投与し、神経変性疾患を予防または治療する方法。
8. N-アセチル-L-ピペコリン酸またはその医薬として許容される塩の有効量を投与し、神経栄養因子産生を促進する方法。

第1図

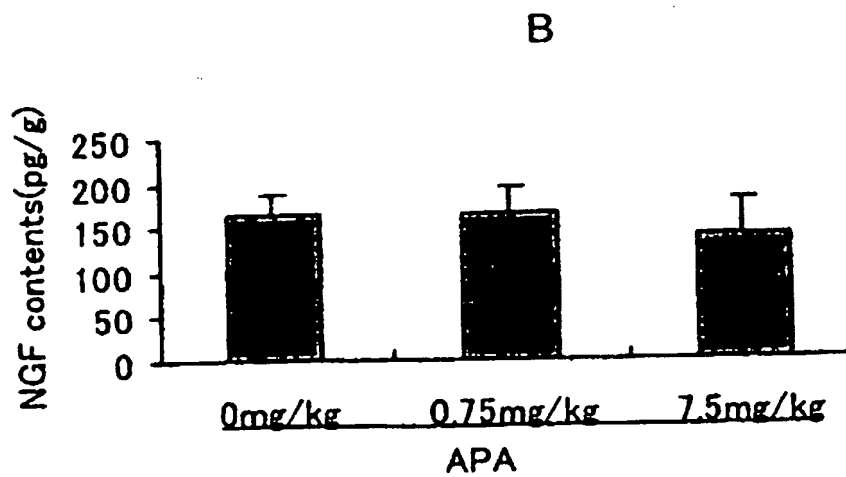
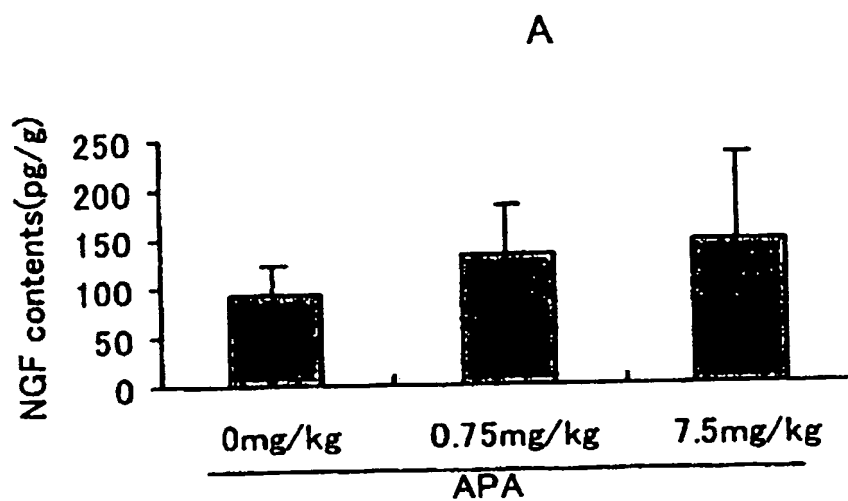
A



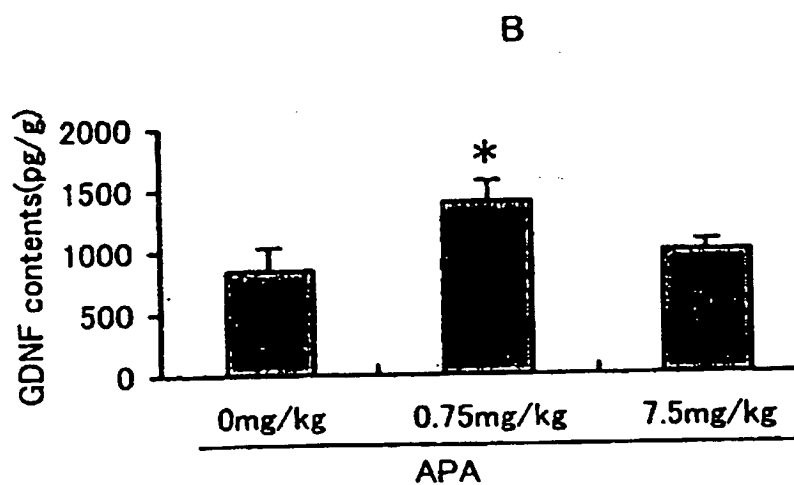
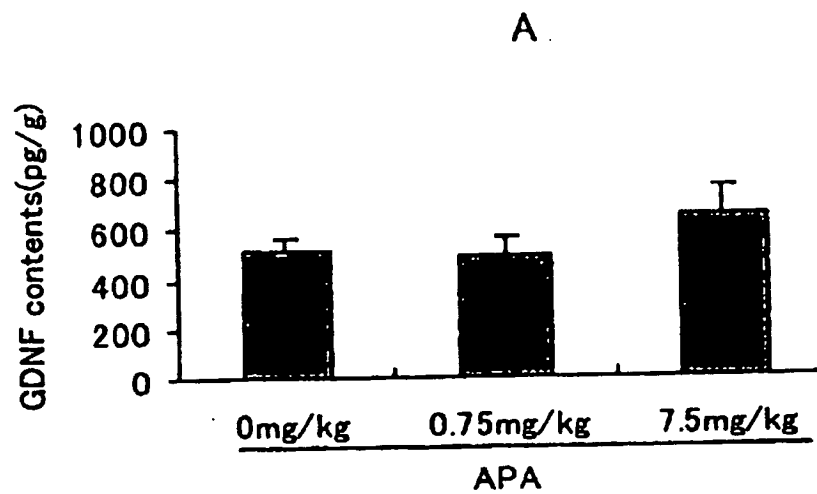
B



第2図

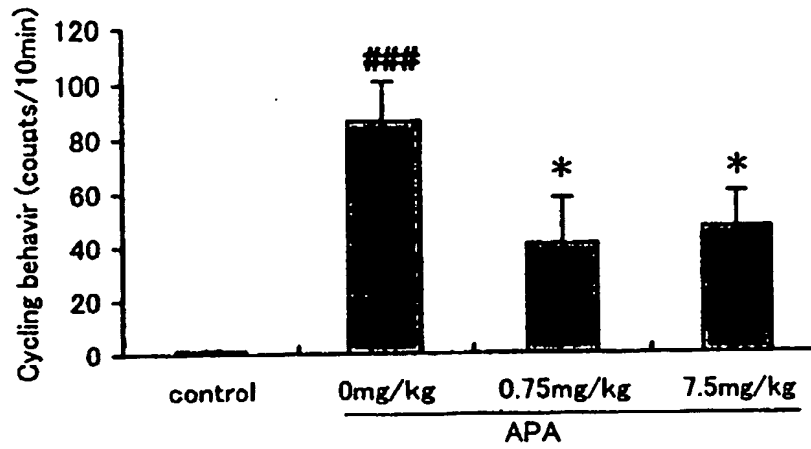


第3図



*
P < 0.05 VS APA (0mg/kg)

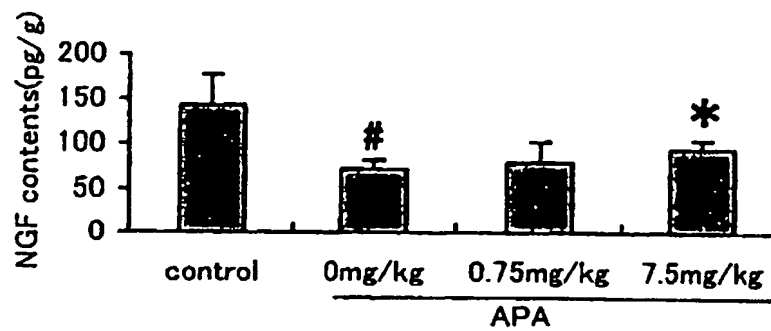
第4図



P<0.001 VS control

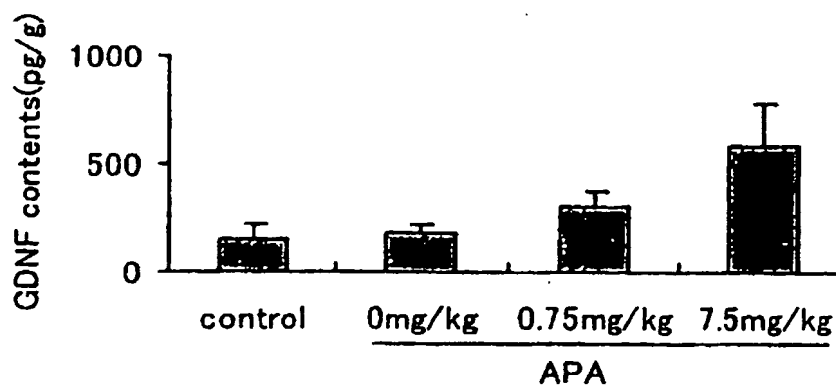
*
P<0.05 VS APA (0mg/kg)

第5図

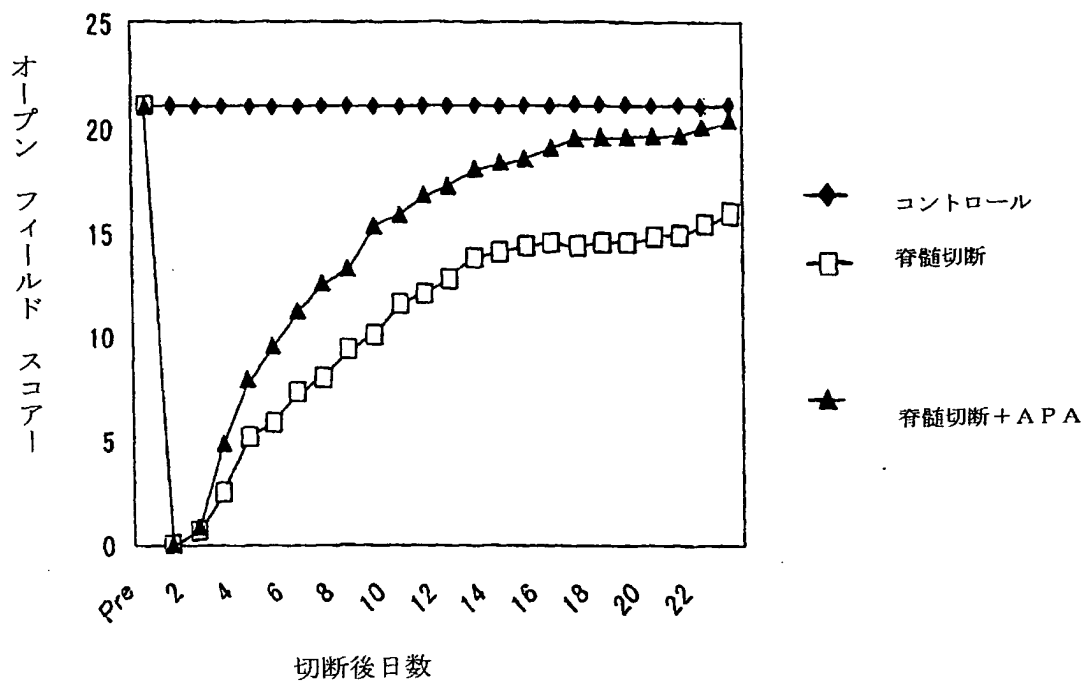


P<0.05 VS control * P<0.05 VS APA (0mg/kg)

第6図



第7図



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP03/13099

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61K31/445, A61P9/00, 9/10, 21/04, 25/00, 25/14, 25/16,
25/28, 25/02, 43/00 // C07D211/60

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A61K31/445, A61P9/00, 9/10, 21/04, 25/00, 25/14, 25/16,
25/28, 25/02, 43/00, C07D211/60

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
REGISTRY (STN), CAPLUS (STN), MEDLINE (STN), EMBASE (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 97/16190 A1 (GUILFORD PHARMACEUTICALS INC.), 09 May, 1997 (09.05.97), & JP 11-514643 A & US 5801197 A & US 2002/013344 A1 & CA 2236328 A & AU 9668573 A1 & EP 859614 A1 & CN 1205635 A & NO 9801903 A	1-6
A	US 5798355 A (GPI NIL HOLDINGS, INC.), 25 August, 1998 (25.08.98), & JP 8-333256 A & CN 1187127 A	1-6
A	Amos B. SMITH, III et al., Total Synthesis of Rapamycin and Demethoxyrapamycin, J.Am.Chem.Soc., 1995, Vol.117, No.19, pages 5407 to 5408	1-6

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not
considered to be of particular relevance"E" earlier document but published on or after the international filing
date"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is
cited to establish the publication date of another citation or other
special reason (as specified)"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other
means"P" document published prior to the international filing date but later
than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or
priority date and not in conflict with the application but cited to
understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be
considered novel or cannot be considered to involve an inventive
step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be
considered to involve an inventive step when the document is
combined with one or more other such documents, such
combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
01 December, 2003 (01.12.03)Date of mailing of the international search report
16 December, 2003 (16.12.03)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/13099

C (Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Erik J. TOONE et al., Enzymes in organic synthesis. 40. Evaluation of the enantioselectivity of the pig liver esterase catalyzed hydrolyses of racemic piperidine carboxylic acid esters, Can.J.Chem., 1987, Vol.65, No.12, pages 2722 to 2726	1-6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.:

PCT/JP03/13099

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 7, 8

because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

The inventions as set forth in claims 7, 8 are relevant to methods for treatment of the human body by therapy.

2. ☐ Claims Nos.:

because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:

because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest☐

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

☐

No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int. Cl ⁷ A61K31/445, A61P9/00, 9/10, 21/04, 25/00, 25/14, 25/16, 25/28, 25/02, 43/00 // C07D211/60		
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int. Cl ⁷ A61K31/445, A61P9/00, 9/10, 21/04, 25/00, 25/14, 25/16, 25/28, 25/02, 43/00, C07D211/60		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの		
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) REGISTRY (STN), CAPLUS (STN), MEDLINE (STN), EMBASE (STN)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	WO 97/16190 A1 (GUILFORD PHARMACEUTICALS INC.) 1997.05.09 & JP 11-514643 A & US 5801197 A & US 2002/013344 A1 & CA 2236328 A & AU 9668573 A1 & EP 859614 A1 & CN 1205635 A & NO 9801903 A	1-6
A	US 5798355 A (GPI NIL HOLDINGS, INC.) 1998.08.25 & JP 8-333256 A & CN 1187127 A	1-6
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日 01.12.03	国際調査報告の発送日 1998.12.03	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 中木 亜希 電話番号 03-3581-1101 内線 3492	4 P 9282

C (続き) 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	Amos B. SMITH, III, et al., Total Synthesis of Rapamycin and Demethoxyrapamycin, J. Am. Chem. Soc., 1995, Vol. 117, No. 19, p. 5407-5408	1 - 6
A	Eric J. TOONE, et al., Enzymes in organic synthesis. 40. Evaluation of the enantioselectivity of the pig liver esterase catalyzed hydrolyses of racemic piperidine carboxylic acid esters, Can. J. Chem., 1987, Vol. 65, No. 12, p. 2722-2726	1 - 6

第I欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 7, 8 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、請求の範囲7及び8に記載された発明は、治療による人体の処置方法に関するものである。
2. ☐ 請求の範囲 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第II欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみにについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☒ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☒ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☒ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.